



Bazı Şifalı Bitkilerin *Helicobacter pylori* üzerindeki Antimikrobiyal Aktiviteleri

A. Aydan KARA^{1,*}, Ömer Faruk ALGUR¹, Meryem Şengül KÖSEOĞLU¹

¹Atatürk Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, 25040 Erzurum-Türkiye

Received: 13.08.2015; Accepted: 19.10.2015

Özet. *Helicobacter pylori*, insanda kronik gastrit, peptik ülser ve mide kanserinin önemli sebeplerinden biridir. Bu hastalıkların önemi, onlara karşı etkili ilaçlı tedavi rejimlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Diğer taraftan son yıllarda bitki türlerinden izole edilen ekstraktlar ve biyolojik bakımdan aktif bileşiklerin tıbbi tedavi amacıyla kullanımı önemli bir ilgi merkezi olmuştur. Bu çalışmanın temelini, bazı şifalı bitkilerin *H. pylori* üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi oluşturmaktadır. Bu amaçla 5 bitki türüne ait farklı kısımlar, çözücüler kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Bitkilerin su, etanol, kloroform ve aseton ekstraktları kullanılmış ve bu ekstraktların hem *H. pylori* hem de diğer test mikroorganizmalar üzerindeki etkileri, agar diffüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. *H. pylori* ve diğer test mikroorganizmalarına karşı en etkili bitki türünün *Malva sylvestris L.* olduğu bulunmuştur. Bitki ekstrelerine en duyarlı mikroorganizmaların *H. pylori*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* türleri oldukları belirlenmiştir. *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* türleri üzerinde ise bitki ekstrelerinden hiçbirinin etkili olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, Bitki Ekstraktı, Antimikrobiyal Aktivite

Antimicrobial Activities of Some Herbs on *Helicobacter pylori*

Abstract. *Helicobacter pylori* is one of the important causes of chronic gastritis, peptic ulceration and gastric cancer in humans. The significance of these infections has led to the development of several drug treatment regimens. On the other hand, recently, biologically active compounds and extracts isolated from plant species used in herbal medicine have been the center of interest. The antimicrobial activities of some herbs on *H. pylori* have formed the basis of this study. For this purpose, different parts of 5 plants species were extracted using solvents. Water, ethanol, chloroform and the acetone extracts of plants were used and effects of these extracts on both *H. pylori* and other test microorganisms were examined using an agar diffusion method on certain media. The most effective plant against *H. pylori* and other test microorganisms were *M. sylvestris L.* The most sensitive microorganisms to the plant extracts were *H. pylori*, *Bacillus subtilis* and *Klebsiella pneumoniae*. None of the plant extracts on *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* was found to be effective.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Plant Extract, Antimicrobial Activity

1. GİRİŞ

İlk kez 1983 yılında Warren and Marshall tarafından insan midesinde izole edilen *Helicobacter pylori*, 2-4 µm boyunda, 0,5-0,9 µm eninde, gram negatif, kıvrık, bir ucunda bulunan kamçıları ile hareketli, bol miktarda üreaz üreten spiral bir bakteridir [1-3]. *H. pylori*, doku kesitlerinde Gram, karbol fuksin, akridin oranj, giemsa, hematoksilen - eozin ve Warthin-starry gümüş boyaları ile, mide de mukus tabakasının altında, epitel hücre yüzeyinde ve lümende görülür. Dokuda spiral, kültürlerde basil veya kıvrık kokumsu şekildedir. Polar olarak 4-6 flagellum taşır. Mide mukusu gibi visköz ortamlarda oldukça hareketlidir. Vidamsı bir harekete sahiptir [2, 4]. *H. pylori*, ideal olarak 37°C sıcaklık, %98 nem ve %5 oksijen ve %5-10 karbondioksitli ortamlarda, %7 at kanı içeren kanlı agar, Brucella agar, Columbia agar gibi agar

* Corresponding author. Email address: ayseaydan@yahoo.com

kültürlerinde, 4-7 günde gözle görülebilen, yuvarlak, yarı şeffaf ve 1-2 mm büyüklüğünde koloniler oluşturmaktadır. Koloniler etrafında, ince ve gri renkli bir hemoliz zonu görülebilir[2, 5, 6].

Günümüzde *H. pylori*'nin başlıca kaynağının insan olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda, iyi temizlenmemiş endoskoplar aracılığı ile insandan insana bulaşma da bildirilmiştir. Hayat şartlarının kötü olduğu ortamlarda, akıl hastalarında, yuvalarda ve az gelişmiş ülkelerde enfeksiyon yoğunluğunun yüksek olması ve bakterinin çocuk gaitasından izole edilmiş olması fekal-oral bulaşım ihtimalini düşündürmektedir. Epidemiyoloji ile ilgili olarak batılı bazı ülkeler incelendiğinde, *H. pylori*'nin 40 yaşın altındaki insanların %20'sini ve 60 yaşın üzerindeki insanların %50'sini enfekte ettiği, ergenlik çağındaki çocuklarda nadir görüldüğü, düşük sosyo-ekonomik düzeyin enfeksiyon için önemli risk faktörü olduğu görülmektedir. Ülkemizde ise *H. pylori* epidemiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda %46-78'lik prevalans değerleri verilmiş ve bu değerlerin ileri yaş gruplarında arttığı belirtilmiştir [1,6,-11]. Ayrıca *H. Pylori*'nin kronik gastritis ,duodenal ülser, mide ülseri ve mide kanseri hastalıklarının oluşmasında önemli role sahip olduğu bilinmektedir [2,6].

Bu bakterinin ve diğer patojen bakterilerin yol açtığı hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik ilaçların çeşitli yan etkileri nedeniyle, son yıllarda bitkisel organizmalardan yararlanma çalışmaları hız kazanmıştır. Bu nedenle araştırmamızda mide problemlerine iyi geldiği inancıyla kullanılan bazı şifalı bitkilerin, bir mide patojeni olan *H. pylori* bakterisinin üzerindeki antibakteriyal özelliklerinin tespiti amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Kimyasal maddeler ve besiyerleri

Bu araştırmada kullanılan maddeler analitik saflıkta olup, MERCK, OXOID ve DIFCO firmalarından temin edilmiştir. Mikroorganizmaların üretilmesi için kullanılan Nutrient Broth (NB, Oxoid), Nutrient Agar (NA, Oxoid), Patates Dekstroz Agar (PDA, Oxoid) ve Brucella Agar (BA, Merck) standart olarak firmalarından satın alınmış, BA %5 insan kanı ilave edildikten sonra kullanılmıştır. Antimikrobiyal Duyarlılık Test Diskleri (ADTD) ile mikroaerofilik ortamın temini için kullanılan gaz oluşturu kit (Campygen) de Oxoid firmasından satın alınmıştır.

2.2. Bitkisel materyal

Bu araştırmada 5 ayrı şifalı bitki türü kullanılmıştır. Bitkilerin seçiminde, Erzurum ve çevresinde yetişen ve çeşitli araştırmacıların [12-15] eserlerinde mide-barsak sistemi hastalıkları için önerilen bitkiler tercih edilmiştir. Bitkiler araziden toplanmış ve teşhisleri Davis (1964)'e göre [12] yapılmıştır. Araştırmada kullanılan bitkilerin genel özellikleri ve biyolojik aktiviteleri aşağıda anlatılmıştır. Bitkilere ait diğer bazı bilgiler ise Tablo 1.'de verilmiştir.

***Malva sylvestris* L. (Ebegümece):** Malvaceae familyasından bir türdür. Bu cinsin Kuzey yarımkürenin ılıman bölgelerinde yayılış gösteren 40-50 türü vardır. Ülkemizde 9 türü bulunur. Bunlardan *Malva sylvestris* L., en geniş yayılış alanı olan türdür. Bu tür çok yıllık otsu bir bitkidir. Anadolu'da yaygın olarak yetişmektedir. Bileşiminde müsilaj (%15-20), glikoz ve pektin taşımaktadır. Taşıdığı müsilaj nedeniyle, diğer müsilajlı droglar gibi koruyucu ve yumaşatıcı bir etkiye sahiptir. Solunum ve sindirim sistemi tahrişleri ve iltihaplarında koruyucu olarak çok kullanılmaktadır. Gastrit, mide ve bağırsak ülserlerinde bitkiden yararlanılmaktadır. Yine hastalıklar sonucu oluşan tüm enfeksiyonlara karşı kullanılmaktadır [13, 15-18].

***Taraxacum officinale* Weber (Kara hindiba):** Compositae familyasına ait bir türdür. *Taraxacum* cinsi ılıman ve soğuk bölgelerde yayılış gösterir ve 100 civarında tür içerir. Ülkemizde 43 türü bulunur. Bu türler sarı çiçekli, çok yıllık, süt taşıyan küçük bitkilerdir. Karbonhidratlar, müsilaj ve acı maddeler taşımaktadır. Midenin mekanik çalışmasını destekleyici, karaciğer, pankreas ve bağırsakların salgılarını etkileyerek sindirim işlevine yardım edici etkisi vardır [14-16].

***Rumex crispus* L. (Evelik):** Polygonaceae familyasına ait bir bitkidir. *Rumex* cinsi, Kuzey yarımkürede yayılış gösterir ve 100 den fazla türü vardır. Ülkemizde 24 türü bulunur. *Rumex crispus* L. çok yıllık otsu bir bitkidir, bu türün yaprakları Anadolu'da "Evelik" ismi altında, sebze olarak veya et dolması yapılarak, yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bitkinin genç yaprakları 192-272 mg/kg vitamin C içerir. Toprak üstü organların içerisinde rumisin, köklerinde ise hrizorobin maddeleri bulunur. Yapraklarında ise fazla miktarda karotenoidler, demir ve fosfor bulunur. Bitkinin kökleri antiseptik özellikte hrizofan asidi içerir. Halk arasında kökler, tohum ve yapraklar haşlama şeklinde tıbbi olarak kullanılır. Mide ve bağırsak bozukluklarında çok etkilidir. Kökleri öğütölerek diş temizliğinde ve diş eti tedavisinde kullanılır [15-18].

***Althaea officinalis* L. (Tıbbi hatmi):** Malvaceae familyasına ait bir bitkidir. *Althaea* cinsi genellikle ılıman bölgelerde yayılış gösterir ve 20 kadar türü vardır. Ülkemizde 4 türü bulunmaktadır. Bunlardan *A. cannabina* L. (Kenevir hatmi), *A. officinalis* L. (Tıbbi hatmi) en yaygın olanıdır. Bileşiminde müsilaj, uçucu yağ ve sabit yağ taşımaktadır. Bitkinin bütün

bölümleri (Çiçek, yaprak, kök) tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Çiçek ve yaprakları, yumuşatıcı ve solunum yolları açıcı, kökleri de mide, bağırsak, ağız ve boğaz ülseri için tavsiye edilmektedir [15-17].

Alkanna tinctoria L. (Havaciva otu): Boraginaceae familyasına ait bir türdür. *Alkanna* cinsinin Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren 40 kadar türü vardır. Ülkemizde 31 türü bulunmaktadır. Çok yıllık otsu bir bitkidir. Bileşiminde mum, tanen ve %5-6 oranında kırmızı renkli bir boyar madde olan naftokinon türevleri (başlıcası alkannin) taşımaktadır. Kabızlık ve yara iyi edici özellikleri vardır. Köklerinden elde edilen boyar madde, eczacılık endüstrisinde, merhem, dudak boyası ve yağların boyanmasında kullanılır [15-17].

Tablo 1. Çalışmada kullanılan bitkiler.

Bilimsel adı (familya)	Yerel adı	Kullanılan kısımları	Geleneksel kullanımı
<i>Malva sylvestris</i> L. (Malvaceae)	Ebegümeci, Ebe kömeç	Meyva, yaprak ve dal	Öksürük, Böbrek İltihabı, Bronşit, Guatr, Gastrit, Mide Ülseri, Kabızlık
<i>Taraxacum officinale</i> Weber (Compositae)	Kara hindiba, Arslan dişi	Çiçek sapı, yaprak, kök	Sarılık, Basur, Şeker, Romatizma, Gut, Böbrek, Bağırsak ve Mide Hastalıkları
<i>Rumex crispus</i> L. (Polygonaceae)	Evelik, Kıvırcık labada	Yaprak	Mide ve Bağırsak Hastalıkları, İskorbüt, Dizanteri, Karaciğer Hastalıkları
<i>Althaea officinalis</i> L. (Malvaceae)	Hatmi çiçeği, Tıbbi hatmi	Çiçek, Yaprak, Dal	Öksürük, Mide Ülseri, Çıban, Yara, Nefes Darlığı
<i>Alkanna tinctoria</i> L. (Boraginaceae)	Havaciva otu	Kök	Kabız, Yara, Bağırsak Hastalıkları

2.3. Test mikroorganizmalar

Bu araştırmada test mikroorganizması olarak aşağıdaki türler kullanılmıştır.

Helicobacter pylori ATCC 49503, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Klebsiella pneumoniae* (Kİ), *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Saccharomyces cerevisiae* NRRLY 12632. Bu türlerden *Saccharomyces cerevisiae* Dr. C.P. Kurtzman'dan (1815 North University Street, Peoria, Illinois 616004, USA), *Klebsiella pneumoniae* Dr. Nimet Yiğit'den (Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Erzurum), diğer türler ise Dr. Kıvanç Çubukçu ve Dr. İlknur Tosun'dan (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Trabzon) temin edilmiştir.

2.4. Bitki ekstralarının hazırlanması

Bitkilerin kloroform, aseton, etanol ve saf su olmak üzere 4 farklı çözücü maddede ekstraları hazırlanmıştır. Bu maksatla, bitkilerin Tablo 2.1.'de belirtilen kısımları blender'de öğütülerek toz haline getirilmiş ve 10 g alınarak içerisinde 100 ml çözücü madde bulunduran 250 ml'lik erlenmayere aktarılmış, oda sıcaklığında 24 saat süreyle 250 devir/dk'lık hızla çalkalayıcıda (G24 Environmental incubator shaker) inkübe edilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlandıktan sonra karışım vakumla süzölmüş ve süzöntü membran filtreden (0,2 µm) geçirilerek steril edilmiştir. Elde edilen karışım kullanılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır [19-22].

2.5. Antimikrobiyal aktivite testleri

Kirby ve Bauer'in disk diffüzyon duyarlılık testi (DDDT) kullanılmıştır [23,24]. Çalışmada kullanılan bitkilerin aseton, etanol, kloroform ve saf su ekstralarından 100 µl'lik miktarlar 6 mm çaplı boş steril disklerle emdirilmiştir. Diskler etüvde 37°C'de kurutulmuş ve kullanılmıştır [20,23,25]. Pozitif kontrol olarak bakteriler için ampisilin (10 µg/disk), OFX; ofloxacin (10 µg/disk), SCF: sulbactam (30 µg/disk) + cefoperazona (75 µg/disk) ve NET: netilmicin (30 µg/disk), mantarlar için nistatin (30 µg/disk), negatif kontrol olarak da sadece çözücü maddenin emdirildiği diskler kullanılmıştır. Brucella Agar besiyerinde (% 5 İnsan kanı içeren) üretilen *H. pylori* kültüründen öze ile alınan bakteri kolonileri, fosfat tamponlu tuz çözeltisi (Phosphate Buffered Saline=PBS) içerisinde süspansedilmiştir. Mc Farland 0.5 nolu bulanıklık tüpü ile kıyaslanarak 108 bakteri/ml olacak şekilde dilüsyon hazırlanmış ve inokulum (aşı maddesi) olarak bu sulandırım kullanılmıştır. Buradan, Brucella Agar besiyeri (% 5 İnsan kanı içeren) bulunan petrilere eküvyon çubuğu kullanılarak film halinde ekim yapılmıştır. Daha sonra diskler (ampisilin diski hariç) petrilere uygun şekilde yerleştirilmiştir. Bakterinin ampisiline hassasiyetinin yüksekliği nedeniyle, ampisilin diskleri her bir plağa tek başına konulmuştur. Petri plakları, içerisinde CampyGen gaz oluşturucu kit bulunduran anaerobik jarlarda (OXOID), mikroaerofilik şartlarda, 37°C'de 3-5 gün süreyle inkübe edilmiştir [19,24,26].

Diğer mikroorganizmaların 24 saatlik taze kültüründen öze ile alınan koloniler PBS içerisinde süspansedilmiş ve yine Mc Farland 0.5 tüpleriyle kıyaslanarak 108 mikroorganizma /ml'lik dilüsyon hazırlanmış ve inokulum olarak kullanılmıştır. Bakteriler için Nutrient Agar, funguslar için Patates Dextroz Agar içeren petrilere eküvyonla ekim yapılmış ve diskler yerleştirilmiştir. Bakteriler 37°C'de, funguslar ise 35°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvelle ölçülmüştür. Çalışma 2 paralel yürütölmüş ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Bitki ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri

Metod kısmında verilen ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen 5 bitki türüne ait su, etanol, kloroform ve aseton ekstralarının *H. pylori* üzerindeki antibakteriyal aktiviteleri Tablo 2.' de ,diğer test mikroorganizmaları (7 bakteri ve 2 fungus türü) üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri ise Tablo 3.'de verilmiştir.

Tablo 2. incelendiğinde *H. pylori* üzerinde, bitkilerin etanol,aseton,kloroform ekstralarının su ekstralarından çok daha etkili olduğu görülmektedir.İnhibisyon zon çapları bakımından değerlendirildiğinde ise bitkilerin kloroform eksterelerinin bütün ekstralardan daha çok antimikrobiyal aktivite gösterdiği anlaşılmaktadır. *H. pylori* üzerinde en etkili bitkinin ise *M. sylvestris* L. olduğu gözlenmiştir. Nitekim bitkinin su, etanol, kloroform, aseton ekstralarının *H. Pylori*'ye karşı en yüksek inhibisyon zon çaplarını oluşturduğu (sırasıyla 8mm,13mm,14mm,9 mm) tespit edilmiştir.Yine *H. Pylori*'ye karşı belirlenen en yüksek inhibisyon zon çapı büyüklüğü (14mm) ,*M. sylvestris* L. bitkisinin kloroform ekstresinden elde edilmiştir.

Tablo 2. Bitki ekstralarının *H.pylori* üzerindeki antibakteriyal aktiviteleri.

Bitkiler	<i>H.pylori</i>			
	Su	Etanol	Kloroform	Aseton
<i>A. officinalis</i> L.	*7	8	10	9
<i>A. tinctoria</i> L.	—	9	—	8
<i>M. sylvestris</i> L.	8	13	14	9
<i>R. crispus</i> L.	6	9	9	9
<i>T. officinale</i> Weber	—	7	13	8
Negatif Kontrol	—	—	—	—
Ampicillin	45			
(-) İnhibisyon yok (*İnhibisyon zon çapı (mm))				

Tablo 3. incelendiğinde ise bitkilerin kloroform ve aseton ekstralarının etanol ekstralarına göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği, su ekstralarının ise hemen hemen hiç etkili olmadığı gözlenmiştir. Bütün ekstralar içerisinde en yüksek (maksimum) antimikrobiyal aktiviteyi *M. sylvestris* ve *T. officinale* bitkilerinin kloroform ekstraları *K. pneumoniae* üzerinde göstererek, 15 mm büyüklüğünde zon çapı oluşturmuşlardır. 5 bitki örneğine ait ekstraların bütünü değerlendirildiğinde etki spektrumu en geniş olan bitkinin *M. sylvestris* olduğu görülmektedir. Test mikroorganizmalar içerisinde, bitki ekstralarına en duyarlı türlerin sırasıyla *K. pneumoniae* ve *Bacillus subtilis* oldukları *P. aeruginosa* ve *E. cloacae* türlerinin ise hiçbir ekstradan etkilenmediği görülmüştür. Çalışmada yer alan iki fungus türünden *C.albicans* türü üzerinde hiçbir bitki türü etkili olmazken *S.cerevisiae* üzerinde özellikle *M. sylvestris* bitkisinin aseton eksteresi 9 mm'lik inhibisyon zon çapı oluşturarak en fazla etkili olmuştur.

Tablo 3. Bitki ekstralarının diğeri test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri.

	Mikroorganizmalar																																							
	<i>B. subtilis</i>				<i>S. aureus</i>				<i>E. cloacae</i>				<i>E. coli</i>				<i>K. pneumoniae</i>				<i>P. aeruginosa</i>				<i>P. mirabilis</i>				<i>C. albicans</i>				<i>S. cerevisiae</i>							
Bitkiler	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A	S	E	K	A
<i>A. officinalis</i> L.	—	—	*8	9	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	—	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	7
<i>A. tinctoria</i> L.	—	10	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7
<i>M. sylvestris</i> L.	—	8	7	12	—	—	8	9	—	—	—	—	—	—	—	—	11	11	15	14	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	9
<i>R. crispus</i> L.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14	—	—	—	8	—	8	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>T. officinale</i> Weber	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	15	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Negatif Kontrol	—				—				—				—				—				—				—				—											
Antibiyotikler	28 (OFX)				22 (SCF)				10 (OFX)				18 (Amp.)				12 (OFX)				22 (NET)				13 (Amp.)				18 (Nistatin)				20 (Nistatin)							

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada 5 bitkinin *H. pylori*'nin de içerisinde bulunduğu 10 test mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite deneyleri için bitkilerin 4 farklı çözücü (su, aseton, etanol ve kloroform) içerisindeki ekstreleri kullanılmıştır.

Farklı çözücüler bakımından karşılaştırıldığında, bitkilerin su ekstrelerinin ise en düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Çeşitli araştırmacılar tarafından daha önce yapılmış araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında genellikle su ekstrelerinin diğer çözücülere göre düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip bulunduğu görülmektedir [24,27,28]. Ancak şifalı bitkilerin geleneksel kullanımında, genellikle bitkinin suda kaynatılmış veya bekletilmiş formları tercih edildiğinden, bir bitkinin su ekstrelerinin antimikrobik etki göstermesi büyük önem arz etmektedir. Az da olsa bazı bitkilerin su ekstrelerinin diğer çözücülerdeki ekstrelerden daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gösteren bulgular da vardır [22,29].

Çalışmamızda *Malva sylvestris* ve *Rumex crispus* bitkilerinin su ekstreleri hem *H. pylori* hem de diğer test mikroorganizmaların bazıları üzerinde az da olsa etkili bulunmuştur.

Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal etkisini araştıran çeşitli araştırmacılar, farklı bitkilerin farklı kısımları için çok çeşitli çözücülerini kullanmışlardır. Bunlar arasında başlıcaları etanol [30,31], metanol [32,33], dietil eter [34], n-hekzan[23], aseton [23,24], kloroform [20,29], metilen klorid [19] ve petrol eteri [24,29], dir. Bu çözücüler içerisinde bütün bitki ve bitki kısımları için geçerli bir tercih sıralaması yapmak mümkün görülmemektedir. Ancak literatürlerdeki çalışma yoğunluğu dikkate alınarak ve genellikle olumlu sonuçlarına bakılarak araştırmamızda çözücü madde olarak etanol, kloroform ve aseton tercih edilmiştir.

İnhibisyon zonlarının genişliği ve çözücü tipi ayırt edilmeksizin bir genelleme yapılacak olursa, etki spektrumu en geniş olan bitkinin *M.sylvestris* olduğu anlaşılmaktadır. Çalışma her ne kadar *H. pylori* üzerinde yürütülse de, bitki özütlerinin tek bir mikroorganizma üzerindeki inhibitör etkisi pratik bakımdan faydasız görülmektedir. Bir başka ifadeyle, antimikrobik etkiye sahip bir maddenin etki spektrumunun geniş olması, pratikte kullanımı ve değerlendirilmesi bakımından önem arz etmektedir. Bu nedenle, araştırmamızda bitkilerin hem *H. pylori* üzerinde hem de diğer test mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobik etkileri de incelenmiş *Malva sylvestris* bitkisi bu bakımdan dikkate değer bulunmuştur.

Test mikroorganizmalar genel olarak değerlendirildiğinde, *B. Subtilis*, *K. pneumoniae*, *H. pylori* türleri ekstrelere karşı en duyarlı türlerdir. Bunlardan *B. subtilis* Gram pozitif, *K.*

Bazı Şifalı Bitkilerin *Helicobacter pylori* üzerindeki Antimikrobiyal Aktiviteleri

pneumoniae ve *H. pylori* ise Gram negatif özellikte bakterilerdir. Yine bitki ekstraktları gram pozitif bir bakteri olan *S.aureus* üzerinde az da olsa etkili olurken, gram negatif bakteriler *P.aeruginosa* ve *E.cloaceae* üzerinde hiçbir aktivite göstermemişlerdir. Bu sonuçlara bakılarak ekstraktların Gram pozitif veya Gram negatif bakterilerden hangisi üzerinde daha fazla etkili olduğu konusunda bir yorum yapmak zordur. Çünkü, bu çalışmada *H. pylori* hedef organizmadır ve onun Gram negatif özellikte olması nedeniyle diğer test mikroorganizmaların çoğu Gram negatifler arasından seçilmiş ve bitki ekstraktlarının etki spektrumlarını tahminde kolaylık sağlaması amacıyla, iki Gram pozitif bakteri ve iki fungus türü denemeye dahil edilmiştir. Birçok araştırmacı da *H. pylori* ile çalışırken benzer test mikroorganizmalarını tercih etmişlerdir [35-37]. Ancak, literatür bilgilerine göre, Gram negatif hücre duvarının daha az geçirgen olması nedeniyle, hem çeşitli bitki ekstraktlarının, hem de başka antimikrobik maddelerin Gram negatifler üzerindeki etkisi, Gram pozitiflere göre daha azdır. [38]. Öte yandan Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının tek tabakalı ve daha geçirgen olması, onların çeşitli antimikrobik maddelere karşı hassasiyetini artırmaktadır [25]. Çalışmamızda kullanılan bitki ekstraktlarının, Gram negatif bakterileri inhibe etmesi, bu ekstraktların güçlü antimikrobik maddeler içerdiğini düşündürmektedir.

Çalışmada kullanılan bitki ekstraktları içerisinde, *H. pylori* üzerinde en yüksek (maksimum) inhibisyon zonu çapını *Malva sylvestris* bitkisinin kloroform ekstresi oluşturmuştur. Tespit edilen zon çapı büyüklüğü 14 mm'dir. Steinkraus et al.(1996)[39] Kambuço çayı ile yaptığı çalışmada *H. pylori* üzerinde 20 mm'lik, Diker ve Hasçelik (1994) [35] çay üzerinde yaptığı çalışmada 22 mm'lik, ve Boyanova ve Neshev (1999)[26], gülyağı ürünleri üzerinde yaptığı çalışmada 13.4 mm'lik inhibisyon zon çaplarına ulaşmışlardır. Bu durumda çalışmamızda elde edilen zon çapı büyüklüğü diğer çalışmalarda bulunan değerlerle karşılaştırılabilir niteliktedir.

Hem bizim çalışmamızda, hem de daha önce yapılmış çalışmalarda, hassas olduğu tespit edilen bakteri türlerinde görülen zon çapları da, bizim kullandığımız ekstraktların antimikrobiyal etkinliklerinin ortalama bir düzeyde olduklarını göstermektedir. Nitekim çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre *B. subtilis* üzerinde *Malva sylvestris* bitkisinin aseton ekstresi maksimum 12 mm'lik, *K. pneumoniae* üzerinde *Malva sylvestris* bitkisi ve *T.officinale* bitkisinin kloroform ekstraktları maksimum 15 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuşlardır. Heisey ve Gorham (1992) [40] çeşitli bitki ekstraktlarını kullandıkları çalışmalarında *B. subtilis* kültüründe maksimum 10 mm'lik, Ebi ve Kamalu (2001)[41], popüler bir Nijerya bitkisi olan *Ogwu odenigbo* üzerinde yaptığı çalışmada. *Klebsiella pneumoniae* kültüründe ise 30 mm'lik, Alkofahi et al.(1990) [42] Ürdün tıbbi bitkileri üzerinde yaptığı çalışmada *B. subtilis* kültüründe 15 mm'lik inhibisyon zonu belirlemişlerdir. Ancak bu bulgulardan yola çıkarak, hangi bitki özütünün antimikrobik aktivite bakımından daha güçlü olduğunu söylemek zordur. Çünkü her ne kadar inhibisyon zon çapları bir

karşılaştırma amacıyla kullanılıyorsa da metodik farklılıklar, çözücü kalitesi ve diske emdirilen miktarlardaki küçük farklılıklar sonuçlar üzerine etki etmektedir.

Araştırmamızda kullanılan test mikroorganizmalar arasında *C. albicans*, *S. cerevisiae* olmak üzere iki fungus türü bulunmaktadır. Kullandığımız bitki ekstraterlerinden hiçbiri *C. albicans* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Bizimle aynı sonuçları elde eden bazı çalışmalar bulunmaktadır [43,44]. *S. cerevisiae* için belirlenen inhibisyon çapı büyüklükleri de literatürde bu tür ile yapılan araştırmalardaki [40,45] inhibisyon çapı değerlerine benzerlik göstermektedir. Bir literatür bilgisinde; bitkisel ekstraktların antifungal özelliklerinin, antibakteriyal özelliklerinden zayıf olduğu ve bunun hücrelerdeki yapısal farklılıktan kaynaklandığı ifade edilmektedir. Söz konusu literatürdeki araştırmacılara göre, antimikrobiyal ajanlar ökaryotik mantar hücrelerini inhibe etmek için hücre membranındaki sterollere bağlanmak zorundadırlar, oysa böyle bir bağlanma, sterol taşımayan prokaryotik bakteri hücreleri için gerekli değildir. [25].

Sonuç olarak *M. sylvestris* bitkisinin, kullandığımız diğer bitki örneklerine göre başta *H.pylori* olmak üzere çalışma da yer alan bütün mikroorganizmalar üzerinde daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve geniş bir etki spektrumuna sahip olduğu tespit edilmiştir. *M. Sylvestris*'in invitro olarak belirlenen bu özelliklerinin, invivo şartlarda da denendikten sonra bitkinin tıp ve endüstride doğal bir antibiyotik olarak kullanımı tavsiye edilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Buran T., Doğu Anadolu Bölgesi'nde duodenum ülserli hastalarda *Helicobacter pylori* prevalansı. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı 1993, 41: Erzurum.
- [2] Çubukçu K., Gastrik biyopsilerden *Helicobacter pylori* izolasyonu ve virulan genlerinin araştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 1999; 53: Trabzon.
- [3] Tünger A., Çavuşoğlu C., Korkmaz M., Mikrobiyoloji. Asya Tıp Yayıncılık 2000; 1. Baskı: 535, İzmir
- [4] Ustaçelebi Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi Ltd 1999; 531-541, Ankara.
- [5] Köksal F., Akan E., Sandıkcı M., Üst gastrointestinal endoskopi uygulamalarda *H.pylori* insidansı. Türk Microbiol Cem Derg 1990; 20-24.
- [6] Kadanalı A., *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkinin anti- *Helico* IgG ile araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı 1997; 36: Erzurum.
- [7] Graham D.Y., Albert L.C., Smith J.L., Latrogenic *Camphylobacter pylori* infection is cause of epidemic achlorhydria. Am J Gastroenterol 1988; 83: 974-80.
- [8] Polish L. B., Douglos J. M., Davidson A. J., Characterization of risk factors for *Helicobacter pylori* infection among men attending an STD clinic: Lack of evidence for sexual transmission. J Clinmicrobial 1991; 29: 2139-43.
- [9] Thomas J. E., Gilosan G.R., Darboe M.K., Isolation of *H. pylori* from human faeces. Lancet 1992; 340: 1194-5.

Bazı Şifalı Bitkilerin *Helicobacter pylori* üzerindeki Antimikrobiyal Aktiviteleri

- [10] Karabiber N., Türet S., Ülker A. , Onaran, I., Normal populasyonda *Helicobacter* prevalans, Tr J Sci 1992; 16: 479-82.
- [11] Beşışık S. F., *Helicobacter pylori* infeksiyonu: Epidemiyoloji ve patogenezi. Flora 1996; 3: 160-166.
- [12] Davis P. H., Mill R. R. ,Tan K., Flora of Turkey. Edinburgh University Press 1964; Vol:10: 590 Edinburgh.
- [13] Treben M.,Tanrı'nın Eczanesinden Sağlık.Anahtar Kitaplar.1994; 203,İstanbul.
- [14] Mességué M., Hayat Veren Şifalı Otlar. (Çeviran : Günaysu, B.) Ad Kitapçılık Aş., 1998; 2. Baskı: 354, İstanbul.
- [15] Baytop T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri 1999; 2. Baskı: 480, İstanbul.
- [16] Seçmen Ö., Gemici Y., Görk G., Leblebici E., Bekat, L., Tohumlu Bitkiler Sistematigi. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi 1986; No: 116: 446, İzmir.
- [17] Öztürk A., 1990. Erzurum Yöresinin Faydalı Ve Tıbbi Yabancı Bitkilerinin Yerel Ad Ve Kullanılışları Yönünden Kısa Tanımları. Y.Y. Üniv. Fen Ed. Fak. Fen Bil Derg 1990; 1: 18, Van.
- [18] Özer Z., Tursun N. ,Önen H., Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam. 4 Renk Yayın Tanıtım Matbaacılık 2001; 253: Ankara.
- [19] Tabak M., Armon R. ,Neoman, I., Cinnamon extracts inhibitory effect on *Helicobacter pylori* J.Etnopharm 1999; 67: 269-277.
- [20] Aslan A., Güllüce M., Ögütçü. H., Bazı likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir araştırma. Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi 1999; 22 (2): 19-26.
- [21] Srinivasan D., Nathan S., Suresh T. ,Perumalsamy P.L., Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. J Etnopharm 2001; 74: 217-220.
- [22] Malekzadeh F., Ehsanifar H., Shahamat M., Levin M. , Colwell R. R., Antibacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz) against *Helicobacter pylori* Int J Antimicrob Agents 2001; 18: 85-88.
- [23] Cáceres A., Fletes L., Aguilar L., Ramirez O., Figueroa L., Taracena A.M. ,Samayoa B., Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. J Ethnopharm 1993; 38: 31-38.
- [24] Ingolfssdottir K., Hjalmarsdottir M. A., Sigurdsson A., Gudjonsdottir G. A., Brynjolfsdottir A. ,Steingrimsson O., In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to protolicheterinic acid from the Lichen *Cetraria islandica*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41 (1): 215-217.
- [25] Ali-Shtayeh M.S., Yaghmour M.R., Faidi Y.R., Salem K. ,Al-Nuri M.A., Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. J Ethnopharm 1998; 60: 265-271.
- [26] Boyanova L. and Neshev G., Inhibitory effect of rose oil products on *Helicobacter pylori* growth invitro: preliminary report. J Med Microbiol 1999; 48: 705-706.
- [27] Eloff J.N., A sensitive and Quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta Med 1998; 64: 711-713.
- [28] Penna C., Marino S., Viot E., Cruanes M.C., Munoz J.D., Cruanes J., Ferraro G., Gutkind G., Martino, V., Antimicrobial activity of Argentina plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. J Ethnopharm 2001; 77: 37-40.
- [29] Germano M. P., Sanogo R., Guglielmo M., Pasquale R. D., Crisafi G. ,Bisignano G., Effects of *Pteleopsis suberosa* extracts on experimental gastric ulcers and *Helicobacter pylori* growth. J Etnopharm 1998; 59: 167-172.
- [30] Dimayuga R. E. and Garcia S. K., Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California sur, Mexico. J Etnopharm 1991; 31: 181-192.
- [31] Valsaraj R., Pushpangadan P. Smitt V.W., Adhersen A. ,Nyman U., Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. J Ethnopharm 1997; 58: 75-83.

- [32] Kadota S., Basnet P., Ishii E., Tamura T., Namba, T., Antibacterial activity of tricorabdol A from *Rabdasia trichocarpa* against *Helicobacter pylori*. *Zbl Bakt* 1997; 286: 63-67.
- [33] Gadhi C. A., Benharref A., Jana M., Lozniewski A., Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Aristolochia paucinervis* pomel extracts. *J Ethnopharm* 2001; 75: 203-205.
- [34] Hanafy M.S.M., Hatem M.E., Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J Etnopharm* 1991; 34: 275-278.
- [35] Diker K. S. and Haşçelik G., The bactericidal activity of tea against *Helicobacter pylori* *Let Appl Microbiol* 1994; 19: 299-300.
- [36] Ohsaki A., Takashima J., Chiba N., Kawamura M., Microanalysis of selective potent anti-*Helicobacter pylori* compound in a Brazilian medicinal plant, *Myroxylon peruiferum* and the activity of analogues. *Bioorganic Med Chem Let* 1999; 9: 1109-1112.
- [37] Takashima J., Chiba N., Yoneda K., Ohsaki, A., Derrisin, a new rotenoid from *Derris malaccensis* Plain and Anti-*Helicobacter pylori* activity of its related constituents. *J Nat Prod* 2002; 65: 611-613.
- [38] Urzua A., Caroli M., Vasquez L., Mendoza L., Wilkens M., Tojo, E., Antimicrobial study of the resinous exudate and of diterpenoids isolated from *Eupatorium salvia* (Asteraceae). *J Ethnopharm* 1998;62: 251-254.
- [39] Steinkraus K. H., Shapiro K. B., Hotchkiss J. H., Mortlock R. P., Investigations into the antibiotic activity of tea fungus/Kombucha beverage. *Acta Biotechnol* 1996; 16 (2-3): 199-205.
- [40] Heisey R.M. and Gorham B.K., Antimicrobial effects of plant extracts on *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* and other microorganism. *Let Appl Microbiol* 1992; 14: 136-139.
- [41] Ebi G. C. and Kamalu T. N., Phytochemical and antimicrobial properties of constituents of "Ogwu odenigbo", a popular Nigerian herbal medicine for thyroid fever. *Phytother Res* 2001; 15: 73-75.
- [42] Alkofahi A., Abdelaziz A., Mahmoudi., Abuirjie M., Hunaiti, A., El-oqla, A., Cytotoxicity, mutagenicity and antimicrobial activity of forty Jordanian medicinal plants. *Int J Crude Drug Res* 1990; 28 (2): 139-144.
- [43] Diğrak M., İlçim A., Alma M.H., Antimicrobial Activities of Several Parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytotherapy Research* 1999;13:584-587.
- [44] Motohashi N., Shirataki Y., Kawase M., Satoru T., Sakagami H., Satoh K., Kurihara T., Nakashima H., Wolfard K., Miskolci C., Molnar J., Biological Activity of Kiwifruit Peel Extracts. *Phytother. Res* 2001;15:337-343.
- [45] Panizzi L., Caponi C., Catalano S., Cioni P. L., Morelli I., In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *J Ethnopharm* 2002; 79: 165-168.